

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-222440

(43)Date of publication of application : 17.08.1999

(51)Int.Cl.

A61K 38/22

(21)Application number : 10-021809

(71)Applicant : ASAHI CHEM IND CO LTD

(22)Date of filing : 03.02.1998

(72)Inventor : SUZUKI KEIMEI
ISHIZUYA TOSHINORI

(54) PROPHYLACTIC AGENT AND THERAPEUTIC AGENT FOR LEUKOPOENIA

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject prophylactic agent or therapeutic agent capable of increasing leukocytes which are granulocytes-macrophages and effective in improving leukopenia by including a parathyroid hormone (derivative) as an active ingredient therein.

SOLUTION: This prophylactic or therapeutic agent is obtained by including at least one kind of parathyroid hormone(PTH) (derivative) as an active ingredient. Human PTH (1-84), human PTH (1-34), etc. are preferably used as the PTH or PTH derivative. The prophylactic or therapeutic agent is useful for the prophylaxis and therapy of bacteria, virus, rickettsia and protozoan infection, hemodyscrasia such as hypoplastic anemia, osteomyelodysplasia syndrome or leukemia, immunological abnormality such as spleen hyperfunction or systemic lupus erythematosus and leukopenia caused by radiation exposure or an agent and a chemical substance, etc. such as an antibiotic, an antipyretic and analgesic agent, an antithyroid agent or an antitumor agent besides leukopenia caused by congenital diseases.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-222440

(43) 公開日 平成11年(1999) 8月17日

(51) Int.Cl.⁶

A 6 1 K 38/22

識別記号

A B Y

F I

A 6 1 K 37/24

A B Y

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号

特願平10-21809

(22) 出願日

平成10年(1998) 2月3日

(71) 出願人 000000033

旭化成工業株式会社

大阪府大阪市北区堂島浜 1 丁目 2 番 6 号

(72) 発明者 鈴木 啓明

東京都港区芝浦 4 丁目 5 番 13 号 旭化成工業株式会社内

(72) 発明者 石津谷 俊則

静岡県田方郡大仁町三福 632 番地の 1 旭化成工業株式会社内

(54) 【発明の名称】 白血球減少症の予防剤および治療剤

(57) 【要約】

【課題】 白血球減少を示す先天性疾患、および感染症、血液疾患、脾機能亢進症、免疫学的異常、および放射線被曝や薬剤および化学物質など種々の原因に起因すると考えられる白血球減少症に有効な予防薬および治療薬を提供する。

【解決手段】 副甲状腺ホルモン (P T H) または P T H 誘導体の 1 種または 2 種以上を有効成分として含有する白血球減少症の予防剤または治療薬剤。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 副甲状腺ホルモン (PTH) または PTH 誘導体の 1 種または 2 種以上を有効成分として含有する白血球減少症の予防剤または治療剤。

【請求項 2】 副甲状腺ホルモン (PTH) がヒト PTH (1-84) である請求項 1 記載の白血球減少症の予防剤および治療剤。

【請求項 3】 PTH 誘導体がヒト PTH (1-34) である請求項 1 記載の白血球減少症の予防剤および治療剤。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】 本発明は、副甲状腺ホルモン (PTH) または PTH 誘導体を有効成分として含有する白血球減少症の予防剤および治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 白血球は顆粒球・単球・リンパ球の総称であり、細菌感染・寄生虫感染・免疫反応・アレルギーなどに関与する。顆粒球はその顆粒の染色性からさらに好中球・好酸球・好塩基球などに分類され、リンパ球は表面抗原や機能によって T 細胞・B 細胞・NK 細胞などに分類される。

【0003】 各白血球の増殖と分化は、細胞系統毎に特異的な因子や機構によって制御されている。たとえば顆粒球とマクロファージに分化する前駆細胞は CFU-GM (colony-forming unit-granulocyte, macrophage) と呼ばれ骨髄中に存在するが、この段階の細胞にはインターロイキン 3 や顆粒球・マクロファージ・コロニー刺激因子が、CFU-GM からさらに 1 段階分化した CFU-G (CFU-granulocyte) には顆粒球・コロニー刺激因子が、CFU-M (CFU-macrophage) にはマクロファージ・コロニー刺激因子がそれぞれ作用して増殖と分化を調節している。

【0004】 また、リンパ系幹細胞の所在も骨髄細胞の移植実験などから骨髄と考えられており、前駆細胞に分化した後、胸腺・骨髄などの中枢性リンパ組織の支配を受けて成熟リンパ球へと分化する。この過程ではインターロイキン 1、2、3、4、5、6、9 などの複数の因子が分化段階ごとに、または分化形質や機能特異的に関与している。

【0005】 白血球減少症とは、一般に末梢血中の白血球数が正常値範囲以下に低下した状態を指す。好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球などが単独に、あるいは複合して減少するが、特に好中球減少症は臨床上の頻度が最も高く、且つ重篤な感染症を誘発することが多いため、最も問題視されている。白血球減少症の発症機序は白血球の産生低下によるものと、白血球の破壊機能が亢進したものの二つに分類される。白血球の産生低下をきたす要因としては、先天性疾患、放射線照射、再生不良性貧血などの血液疾患が挙げられる。一方、白血球の破

壊機序の亢進を示す要因としては、感染症の初期、重症感染症、脾機能亢進症、免疫異常などが挙げられる。また薬剤性の白血球減少症としては、抗腫瘍剤のように用量依存的に細胞増殖阻害や蛋白質合成阻害をきたすものと、抗生物質のように免疫学的異常に基づくものに大別される。

【0006】 白血球減少症の治療法としては、現在のところ顆粒球・コロニー刺激因子、マクロファージ・コロニー刺激因子が有力な手段であるが、骨痛、肝臓障害、腎臓障害、悪心・嘔吐、発疹などの副作用が存在し、またこれらの因子は種々の白血病細胞株に対して増殖促進作用を有することから発癌性や癌の進展に関与する可能性も指摘されている。また最近、顆粒球・コロニー刺激因子には骨量低下作用が存在することも報告されており (J. Bone Miner. Res. 9, S162, 1994)、より副作用の少ない予防剤および治療剤が望まれていた。

【0007】 一方、副甲状腺ホルモン (PTH) はカルシウム代謝および骨代謝に必須のホルモンとして広く知られており、従来、PTH の血中カルシウム濃度、骨代謝に対する生理作用または薬理作用は数多く報告されている。しかし造血系に対する PTH の作用は著しく少なく、例えば J. Clin. Invest. 67, 1263-1269, 1981, J. Lab. Clin. Med. 104, 1016-1026, 1984, Am. J. Vet. Res. 50, 1898-1905, 1989. などが挙げられるが、その殆どは顆粒球・マクロファージ系の前駆細胞 (CFU-GM) や赤血球系前駆細胞 (BFU-E) の増殖分化を PTH が in vitro で抑制したとの知見に基いたものであり、且つ全ての報告が造血系の抑制因子としての PTH の作用を指摘するものであった。

【0008】 また、副甲状腺ホルモン (PTH) または PTH 誘導体をマウスおよびウサギに投与し、血小板の増加を報告している (特開平 9-301887 号公報) が、あくまでこの血小板の形成は、白血球の場合と異なり、巨核球前駆細胞を経て巨核球に分化し、成熟した後最終的に血小板となるものであり、白血球に対する何らの作用、効果も示していない。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】 本発明は白血球減少症の予防剤および治療剤の提供を目的とする。さらに本発明は白血球減少に伴う疾患の予防あるいは治療などに有効な薬剤を提供することを目的とする。

【0010】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは鋭意研究を重ねた結果、副甲状腺ホルモン (PTH) または PTH 誘導体が骨髄から得られた造血幹細胞である有核細胞に作用して増殖と分化を促進して顆粒球・マクロファージである白血球を増加せしめ、少なくとも白血球の減少症を改善するに有効であることを見だし本発明を完成させた。

【0011】 本発明は上記の知見に基づくもので、副甲

状腺ホルモン（PTH）またはPTH誘導体を有効成分として含有する白血球減少症の予防剤および治療剤に関する。また、本発明の白血球減少症の予防剤および治療剤は、先天性疾患による白血球減少症の他に、細菌・ウイルス・リケッチア・原虫感染、または再生不良性貧血・骨髓異形成症候群・白血病などの血液疾患、脾機能亢進症、全身性エリテマトーデスなどの免疫学的異常、および放射線被曝や抗生物質・解熱鎮痛剤・抗甲状腺剤・抗潰瘍剤などの薬剤および化学物質など種々の原因に起因すると考えられる白血球減少症の予防および治療を対象とする。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明における副甲状腺ホルモン（PTH）とは、生体内で血清カルシウム濃度上昇効果、リン濃度下降効果を示すホルモンの総称で、例えばヒトでは84個のアミノ酸より成る天然型のポリペプチドが挙げられる。またPTH誘導体とは、前記のPTHの部分ペプチドや、PTHそのものあるいはその部分ペプチドの構成アミノ酸を一部他のアミノ酸に置換したもの、PTHそのものあるいはその部分ペプチドの構成アミノ酸の一部を欠失したもの、およびPTHそのものあるいはその部分ペプチドに1種以上のアミノ酸を付加したペプチドなどで同様の活性を有するペプチドを意味する。PTHの部分ペプチドとしては、例えばヒトPTH（1-34）、ヒトPTH（1-38）、ヒトPTH（1-34）NH₂、ヒトPTH（1-64）、ヒトPTH（35-84）、ウシPTH（1-34）などが挙げられる。PTH（1-34）とはPTHのN末端側から34番目のアミノ酸までの34個のアミノ酸から成るPTHの部分ペプチドを示し、天然型PTHの生物活性は、このPTH（1-34）によって再現されることが知られている（生化学辞典、東京化学同人、1984）。本発明においてはこれらのPTH誘導体もその目的に包含される。

【0013】さらにPTH誘導体のアミノ酸置換の好ましい例としては、8位における構成アミノ酸のロイシンやノルロイシンへの置換、18位における構成アミノ酸のロイシンやノルロイシンへの置換、34位における構成アミノ酸のチロシンへの置換などが挙げられ、例えば[N1e^{8,18}]ヒトPTH（1-34）、[N1e^{8,18}, Tyr³⁴]ヒトPTH（1-34）、[N1e^{8,18}]ヒトPTH（1-34）NH₂、[N1e^{8,18}, Tyr³⁴]ヒトPTH（1-34）NH₂などが挙げられる。

【0014】本発明で白血球減少症の予防剤および治療剤として用いられる副甲状腺ホルモン（PTH）またはPTH誘導体としては、前記のとおり、生体内で血清カルシウム濃度上昇効果、リン濃度下降効果を示すペプチドホルモンであれば全て本発明のPTHまたはPTH誘導体として包含される。また、PTHまたはPTH誘導

体であって本発明の目的に使用されるものはこれらの例示以外にも本発明に包含される。例えば好ましい例としては、ヒトPTH（1-34）、ヒトPTH（1-84）、ヒトPTH（1-38）、ヒトPTH（1-37）、ヒトPTH（1-34）NH₂などが挙げられ、さらに好ましくはヒトPTH（1-34）、ヒトPTH（1-84）であり、最も好ましいものとしてヒトPTH（1-34）が挙げられる。

【0015】また本発明におけるPTHまたはPTH誘導体とは製造法によってなんら限定されるものではなく、例えば天然より抽出されたPTH、遺伝子工学的に製造されたPTHまたはPTH誘導体、化学的に合成されたPTHまたはPTH誘導体などを使用することができる。白血球減少症の予防剤および治療剤とは、先天性遺伝疾患による白血球減少症の他に、種々の原因疾患や要因に起因すると考えられる白血球減少症の予防剤および治療剤を意味する。その原因疾患としては、例えば、細菌による重症感染症・敗血症・腸チフス・粟粒結核、およびインフルエンザ・麻疹・ウイルス性肝炎・水痘・風疹などのウイルス感染症、発疹チフス・ツツガムシ病などのリケッチア感染症、マラリア・カラアザールなどの原虫感染症、再生不良性貧血・巨赤芽球性貧血・高度の鉄欠乏性貧血・発作性夜間血色素尿症・白血病・骨髓異形成症候群・周期性好中球減少症などの血液疾患、肝硬変・BANTI症候群・NIEMANN-PICK病・FELTY症候群などの脾機能亢進症・脾腫・輸血異常・全身性エリテマトーデスなどの免疫学的異常、その他癌の骨髓転移や甲状腺機能亢進症・悪液質・栄養不良などが挙げられる。また要因としては放射線被曝やペニシリン系・セファロスポリン系・アミノグリコシド系・ST合剤・抗結核剤・クロラムフェニコール・バンコマイシンなどの抗生物質、アスピリン・インドメサシン・アミノピリン・フェナセチンなどの解熱鎮痛剤、メチマゾール・プロピオチオウラルシルなどの抗甲状腺剤、シメチジン・ラニチジンなどの抗潰瘍剤、ベスナリノン・カプトプリル・ジソピラマイド・プロカインアミド・キニジン・ヒドララジンなどの心疾患治療剤、その他クロルプロマジン、各種抗腫瘍剤、インターフェロンなどの投与が挙げられる。また骨髓移植後の白血球減少症なども含まれる。

【0016】本発明の薬剤の形態としては、注射剤・直腸吸収剤・経膈剤・経皮吸収剤・経鼻吸収剤・経肺吸収剤・口腔内吸収剤・経口投与剤などが挙げられる。これらの投与形態はなんら限定されるものではない。注射剤としては好ましくは筋肉内投与または静脈内投与のために使用されるもので、直腸吸収剤・経膈剤は一般に坐剤の形態で使用され、経鼻吸収剤・経皮吸収剤は適当な吸収促進剤を添加した製剤の形態で使用され、経肺吸収剤は適当な分散剤もしくは水および噴射剤を含有するエアゾール組成物の形態で使用される。口腔内吸収剤は適当な吸収促進剤を添加して例えば舌下錠などの形態で使用

され、また経口投与剤はリボソーム製剤、マイクロカプセル製剤などの経口用としての形態で使用される。

【0017】これらの薬剤は、製薬学的に許容しうる補助剤を添加することでそれぞれの薬剤形態に適した剤型に調製される。この補助剤としては例えば基剤・安定剤・防腐剤・保存剤・懸濁化剤・溶解剤・溶解補助剤・乳化剤・滑沢剤・粘稠剤・賦形剤・結合剤・矯味剤・着色剤・芳香剤・無痛化剤・緩衝剤などが挙げられる。これらの補助成分を利用して、本発明の薬剤を調製するに際しては、例えば医薬品添加物一覧表（財団法人東京医薬品工業協会医事法規委員会および大阪医薬品工業協会医事法規研究委員会発行）にあるごとく、当該補助成分を適宜選択し、使用すればよい。また補助成分の使用量は製剤学的に許容されうる範囲内において剤型などに応じて適宜選択すればよい。

【0018】本発明の薬剤の投与期間は、原則的に临床上、白血球減少症と診断される期間とし、病因や病態に応じて臨床医の判断により回復後も投与を続けることが可能である。さらに化学療法剤投与時のように白血球減少症の発症が予想される場合、予防的に本発明の薬剤を投与することも可能である。本発明の薬剤の投与量は、例えばヒトPTH（1-34）を筋肉内注射する場合、1回あたり0.1～100 μ g、好ましくは3～60 μ g/回が投与される。その他の製剤、その他の副甲状腺ホルモン（PTH）誘導体の場合も、ヒトPTH（1-34）の重量に準じて投与すればよい。また投与頻度は月1回から連日投与が可能であり、好ましくは1回/2週から5回/週程度もしくは連日投与である。

【0019】このようにして製造・調製された副甲状腺ホルモン（PTH）またはPTH誘導体は以下の実施例に示す通り、白血球減少症を良好に予防または改善維持せしめてなる白血球減少症予防および治療剤として有用なものである。

【0020】

【実施例】次いで本発明の実施例を挙げて詳しく説明するが、本発明はこれらによりなんら限定されるものではない。

【0021】

【実施例1】ヒトPTH（1-34）のラット骨髓造血促進作用

【実験動物】実験には6カ月令の雌性F344/DuCrj系ラットを日本チャールスリバーより購入して用いた。

【投与薬液の調製】ヒトPTH（1-34）（旭化成工業社製；一般名・酢酸テリパラチド）は最終濃度が5、20 μ g/mlとなるように0.1%ウシ血清アルブミ

ン添加生理食塩水に溶解し、これを投与薬液とした。

【投与】ラットを4群に分け、その内の3群に卵巣摘出手術を、残りの1群に疑似手術を施した。6カ月後、卵巣摘出群のうちの2群に上記薬液をそれぞれ5、20 μ g/Kgずつ週3回背部皮下に投与した。残りの卵巣摘出群には0.1%ウシ血清アルブミン添加生理食塩水を1ml/Kgずつ週3回背部皮下に投与した。投与は午前9時より10時の間に行った。投与期間は6カ月間とした。

【骨髓細胞の調製】投与終了後のラット脛骨を無菌条件下で摘出し、骨端部を切除、5mlのイスコフ培地により骨髓細胞をフラッシュアウトさせた。得られた骨髓細胞は塩化アンモニウム緩衝液中で氷冷しながら攪拌し赤血球を破壊、さらに2%ウシ胎児血清添加イスコフ培地で2回遠心洗浄して骨髓中有核細胞の数を計測した（図1に結果を示した）。

【造血活性評価】骨髓中有核細胞の最終濃度が 1×10^5 細胞/wellとなるようにメチルセルロース培養用培養液（Methocult：StemCell Technologies Inc製）に懸濁し、35mm dishに播種、37℃、CO₂インキュベーターで14日間培養、顆粒球・マクロファージ（CFU-GM）コロニーの数を計測した（図2に結果を示した）。

【結果】図1の結果から、この骨髓有核細胞数は卵巣摘出によって顕著に減少した（ヒトPTH（1-34）無投与群）が、ヒトPTH（1-34）投与群では用量依存性的かつ有意にこれを回復させた。また一定の骨髓有核細胞数におけるCFU-GMコロニー数を図2に示したもので、CFU-GMコロニー数は卵巣摘出によって疑似手術群の約50%まで減少したが、ヒトPTH（1-34）投与群では用量依存性的かつ有意にこれを回復させた。これらのことからPTHは低下した骨髓中の白血球造血機能を改善させることが初めて明らかとなった。

【0022】

【発明の効果】本発明の副甲状腺ホルモン（PTH）またはPTH誘導体を有効成分として含有する白血球減少症の予防剤および治療剤は、先天性疾患による白血球減少症の他に、感染症、血液疾患、脾機能亢進症、免疫学的異常、および放射線被曝や薬剤および化学物質など種々の原因に起因すると考えられる白血球減少症の予防および治療に有用である。

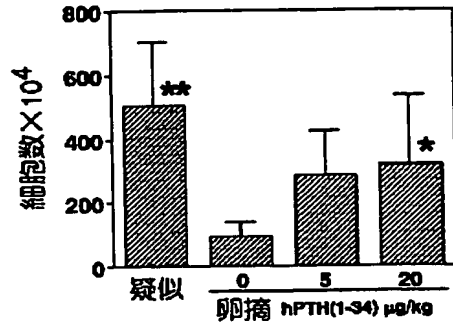
【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、PTHの骨髓中有核細胞数改善作用（ラット反復投与）を示す図である。

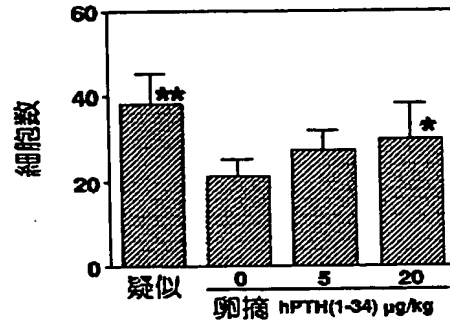
【図2】図2は、PTHの骨髓中CFU-GMコロニー数改善作用（ラット反復投与）を示す図である。

【図 1】

骨髓中有核細胞



【図 2】

顆粒球・マクロファージ系
コロニー数

THIS PAGE BLANK (USPTO)